



**UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA
FACULDADE DE CEILÂNDIA
CURSO DE FARMÁCIA**

Giovanna Oliveira de Brito

Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá (*Spondias mombin* L.)

BRASÍLIA, 2019

Giovanna Oliveira de Brito

Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá (*Spondias mombin* L.)

Monografia de Conclusão de Curso apresentada
como requisito parcial para obtenção do grau de Farmacêutico
na Universidade de Brasília, Faculdade de Ceilândia.

Orientador (a): Prof(a). Eliana Fortes Gris

BRASÍLIA, 2019

Ficha catalográfica elaborada automaticamente,
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

OG512m Oliveira de Brito, Giovanna
Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá
(Spondias mombin L.) / Giovanna Oliveira de Brito;
orientador Eliana Fortes Gris. -- Brasília, 2019.
52 p.

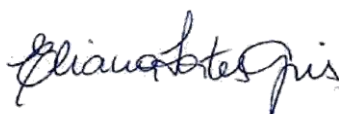
Monografia (Graduação - Farmácia) -- Universidade de
Brasília, 2019.

1. Microencapsulação. 2. Estabilidade. 3. Compostos
fenólicos. 4. Spondias mombin L.. I. Fortes Gris, Eliana ,
orient. II. Título.

Giovanna Oliveira de Brito

Microencapsulação de Compostos Bioativos Extraídos de Cajá (*Spondias mombin* L.)

BANCA EXAMINADORA



Orientador(a): Prof(a). Dra. Eliana Fortes Gris
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília – UnB

Me. Bruna Cabral Reis Pimenta

Prof(a). Dr. Paulo Gustavo Barboni Dantas Nascimento
Faculdade de Ceilândia – Universidade de Brasília - UnB

BRASÍLIA, 2019

*“Por vezes sentimos que aquilo que fazemos
não é senão uma gota de água no mar. Mas
o mar seria menor se lhe faltasse uma gota”.*

(Madre Teresa de Calcuta)

*Dedico este trabalho aos meus irmãos,
Maria Clara, Davi Gabriel e João Pedro.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus e a todos, que foram minha base em toda minha caminhada como pessoa e como estudante.

Agradeço aos meus pais, Luciana e Giovane, pela minha educação, pela minha formação e por muito mais que não cabe nem em palavras. Agradeço aos meus irmãos, Maria Clara, Davi Gabriel e João Pedro.

Agradeço ao meu namorado, Arthur, pela paciência, pelo apoio, pela amizade, pelo aprendizado, pelo carinho, pelo cuidado, por tudo.

Agradeço aos amigos que conheci na faculdade, Isadora Celestino, Mayumi, Verônica Lima, Mariana Gaspar, Dalton, Mirella, Gabriel Farrapeira, Fábio Lima, Jhon, João Pedro Silva, Antonio, Ana Beatriz Custódio, Maria Cecília e Bruno, pois nunca mediram esforços em me ajudar, por irem ao laboratório comigo, por segurar minha mão em momentos de crise e muito mais.

Agradeço imensamente a minha vó e meu vô, Terezinha e Francisco, por cuidar de mim e me acolher com tanto carinho. Agradeço a toda minha família, tios e tias, primos e primas, por acreditar em mim.

Sou grata a todos os professores, em especial a professora Eliana por me ensinar tanto sobre ciência, e ao professor Paulo pelos conselhos e pelas piadas, claro.

RESUMO

O cerrado é um dos biomas existentes no território brasileiro com um grande número de espécies endêmicas de plantas, sendo muitas delas utilizadas com finalidade terapêutica por conta da alta concentração de compostos bioativos. Dentre essas plantas, o cajá, que é fruto do cajazeiro, tem um alto teor de metabólitos secundários que contem valor funcional em sistemas biológicos. Os compostos fenólicos são bioativos que estão presentes no cajá, são substâncias reativas, sensíveis a muitos estímulos como a temperatura, que pode comprometer a atividade e utilização desses compostos, sendo o processo de microencapsulação uma forma de aumentar a estabilidade dessas moléculas. O objetivo desse trabalho foi microencapsular o extrato das cascas do cajá com quitosana a partir de *spray drying*, bem como o estudo de estabilidade das micropartículas sob três diferentes temperaturas ($4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$, $25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{ C}$ e 40° C com 70% de umidade) durante 30 dias. A quitosana foi o polímero escolhido por apresentar um baixo custo, alta biodegradabilidade e baixa toxicidade. As micropartículas demonstraram aspecto esférico com superfície lisa e enrugada, demonstrando a formação do produto desejado. O teste de estabilidade nos 30 dias mostrou uma retenção do teor de ~83% de compostos fenólicos nas microcápsulas refrigeradas, ~77% em temperatura ambiente e ~54% em temperatura estressante. As micropartículas foram formadas e mantiveram uma maior estabilidade quando refrigeradas, demonstrando a sensibilidade térmica desses compostos em temperatura ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{ C}$) e em temperatura estressante (40° C com 70% de umidade), onde houve a maior degradação.

Palavras-Chave: Microencapsulação. Estabilidade. Compostos fenólicos. *Spondias mombin* L.

ABSTRACT

Cerrado is one of the biomes existing in the Brazilian territory with a large number of endemic plant species, many of them being used for therapeutic purposes because of the high concentration of bioactive compounds. Among these plants, cajá, which is the fruit of cajazeiro, has a high content of secondary metabolites that have functional value in biological systems. Phenolic compounds are bioactive that are present in Caja, are reactive substances, sensitive to many stimuli such as temperature, which can compromise the activity and use of these compounds, and the microencapsulation process is a way to increase the stability of these molecules. The objective of this work was to microencapsulate the extract of the cajá and chitosan shells from spray drying, as well as the study of microparticle stability under three different temperatures ($4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{C}$, $25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$ and 40°C 70% humidity) for 30 days. Chitosan was the polymer chosen for its low cost, high biodegradability and low toxicity. The microparticles demonstrated spherical appearance with smooth and wrinkled surface, demonstrating the formation of the desired product. The 30-day stability test showed a retention of ~ 83% phenolic compounds in refrigerated microcapsules, ~ 77% at room temperature and ~ 54% at stressful temperature. The microparticles were formed and they kept a greater stability when refrigerated, demonstrating the thermal sensitivity of these compounds at room temperature ($25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{C}$) and stressful temperature (40°C , 70% humidity), where there was the greatest degradation.

Keywords: Microencapsulation. Stability. Phenolic Compounds. *Spondias mombin* L.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Biossíntese do metabolismo secundário	138
Figura 2. Propriedades físico-químicas básicas e reatividade do grupo funcional do fenol	20
Figura 3. Estrutura química da quitina e da quitosana	22
Figura 4. Estrutura das microcápsulas e das microesferas	24
Figura 5. Partículas biopoliméricas podem se apresentar de variadas formas. As mais comuns são as partículas de hidrogel (i), partículas de hidrogel cheias (ii), partículas biopoliméricas (iii), complexos de inclusão (iv) e complexos polieletrólíticos (v)	25
Figura 6. Fotomicrografia de micropartículas de jabuticaba obtidas por <i>spray drying</i> utilizando quitosana como agente encapsulador. Ampliação de 5.000 vezes. A: MP0 – não contém o extrato da casca da jabuticaba	394
Figura 7. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura em aumentos de 1.000 a 5.500 vezes para as micropartículas contendo extrato de casca de cajá	396
Figura 8. Gráfico demonstrando o teor de polifenóis totais (%) do extrato de casca do cajá microencapsulado submetidos a diferentes condições de temperatura: temperatura ambiente (~25° C), refrigeração (~2° a 6° C) e temperatura estressante (40° C, umidade de 70%) durante 30 dias.....	40

LISTA DE ABREVIATÖES

CPAC - EMBRAPA Cerrados

EAG - Equivalentes de Ácido Gálico

EMBRAPA - Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

MEV - Microscopia Eletrônica de Varredura

SUMÁRIO

1. Introdução	13
2. Revisão de Literatura	15
2.1. Cerrado	15
2.2. Frutos do cerrado	15
2.3. <i>Spondias mombin</i> L.	16
2.4. Compostos Fenólicos	18
2.5. Quitosana.....	21
2.6. Microencapsulação	23
2.7. Micropartículas de quitosana.....	26
3. Justificativa	28
4. Objetivos	29
4.1. Objetivo geral	30
4.2. Objetivos específicos	30
5. Metodologia.....	30
5.1. Amostras.....	30
5.2. Elaboração do extrato de cajá.....	30
5.3. Quantificação de fenólicos totais no extrato de cajá.....	30
5.4. Obtenção de micropartículas de quitosana contendo extrato de cajá	31
5.5. Caracterização das micropartículas	31
5.5.1. Rendimento da microencapsulação	31
5.5.2. Eficiência de encapsulação	31
5.5.3. Morfologia	32
5.5.4. Estudo de estabilidade	32
5.5.5. Análise estatística.....	33
6. Resultados e Discussão.....	34
6.1. Quantificação de fenólicos totais do extrato da casca do cajá.....	34
6.2. Caracterização das micropartículas	35
6.2.1. Rendimento da microencapsulação e eficiência de encapsulação	35
6.2.2. Morfologia	36
6.2.3. Estudo de estabilidade	39
7. Conclusão e Considerações finais.....	44
8. Referências Bibliográficas.....	45

1. Introdução

O Brasil é o país com o maior número de espécies de plantas do mundo (FILARDI *et al.*, 2018). Dentre os biomas existentes no território brasileiro, está o cerrado, que é considerado um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade desde o ano 2000. Este termo é referente a regiões que possuem pelo menos 1.500 espécies de plantas endêmicas e perderam pelo menos 70% do seu habitat natural (SAWYER *et al.*, 2017).

As condições adversas características do cerrado, como o convívio com o fogo, com as chuvas sazonais e o solo pobre de nutrientes, são, em grande parte, responsáveis pelas propriedades fisiológicas e fitoquímicas das plantas desse bioma (FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2015). O perfil fitoquímico dos frutos do cerrado demonstra um enorme potencial terapêutico em razão da presença de bioativos produzidos pelas plantas. Nesses organismos, os compostos fenólicos têm a função de proteção contra a exposição ao estresse hídrico, alta radiação ultravioleta, ataques herbívoros, infecções por fungos, entre outros (ALBUQUERQUE; RAMOS; MELO, 2012; BAILÃO *et al.*, 2015).

Dentre as frutas desse bioma, está o cajá (*Spondias mombin* L.), também chamado de taperabá, cajá verdadeiro e cajá-mirim, é um membro da família Anacardiaceae, podendo ser encontrado nas áreas tropicais da América, Ásia e África. Esse fruto se apresenta como uma pequena drupa ovoide com fina pele amarelada e um sabor agri-doce (TIBURSKI *et al.*, 2011). Há estudos que comprovam o alto teor de bioativos no cajá, entre eles os compostos fenólicos (BAILÃO *et al.*, 2015; TIBURSKI *et al.*, 2011).

Muitos compostos fenólicos são conhecidos por apresentarem propriedades antioxidantes, que lhes conferem ação terapêutica. O ácido elágico, por exemplo, é um dos compostos presentes no cajá, e apresenta ação anti-inflamatória em doenças crônicas, principalmente na colite ulcerativa, doença de Cronh's, Alzheimer e diabetes (DEROSA; MAFFIOLI; SAHEBKAR, 2016).

Os compostos fenólicos são substâncias altamente instáveis, produzindo inúmeros produtos de reação durante o armazenamento e processamento, sendo, portanto, susceptíveis a estímulos externos (CHEYNIER; HALBWIRTH, 2017). A instabilidade desses compostos pode comprometer sua atividade

biológica e suas propriedades benéficas. Portanto, seu comportamento sob diferentes condições deve ser avaliado e levado em consideração, uma vez que sua reatividade torna-os sensíveis a estímulos térmicos, à luz, ao oxigênio, a solventes, à presença de enzimas, proteínas e íons metálicos ou associação com constituintes alimentares. Dentre esses estímulos, a degradação térmica dos compostos fenólicos é um aspecto que pode interferir substancialmente suas potenciais aplicações (VOLF *et al.*, 2014).

Por essa razão, é necessário considerar na utilização de processos como a microencapsulação, que permite a proteção, diminuindo a degradação e aumentando a estabilidade dessas substâncias (ALVIM *et al.*, 2016; CABRAL *et al.*, 2018). A microencapsulação pode utilizar diferentes tipos de materiais poliméricos, dentre eles a quitosana, que contém características interessantes para essa técnica, sendo um composto biodegradável, biocompatível e não tóxico, além de ser uma matéria prima de baixo custo (GELFUSO *et al.*, 2011).

2. Revisão de Literatura

2.1. Cerrado

O Brasil é um dos poucos lugares onde ainda se mantêm grandes áreas de conservação, o que é relevante do ponto de vista da preservação, uma vez que é o país com maior número de espécies de plantas do mundo (FILARDI *et al.*, 2018). Dentre os biomas existentes no território brasileiro, o cerrado se destaca sendo considerado um dos *hotspots* mundiais de biodiversidade, apresentando extrema abundância de espécies endêmicas. A palavra “*hotspots*” se refere a regiões que possuem mais de 1.500 espécies de plantas endêmicas e perderam pelo menos 70% do seu habitat natural (SAWYER *et al.*, 2017).

O cerrado possui uma vegetação particular, com gramíneas, ervas e 30 a 40% de plantas lenhosas. As árvores e os arbustos exibem galho e tronco contorcido com uma casca grossa que é resistente ao fogo, contendo folhas coriáceas brilhantes. Segundo a literatura, o convívio dessas plantas com o fogo, juntamente com as chuvas sazonais e o solo pobre de nutrientes, é responsável pelas suas características fisiológicas e fitoquímicas (FANK-DE-CARVALHO *et al.*, 2015).

Muitos estudos sobre frutos desse bioma vêm sendo desenvolvidos por conta do crescente interesse em seus bioativos. O conteúdo e a quantidade de metabólitos secundários podem ser diferentes a depender dos fatores ecológicos nas áreas onde as plantas são cultivadas (BIAZOTTO *et al.*, 2019). A produção desse tipo de composto pode ser consequência da exposição ao estresse hídrico, alta radiação ultravioleta, ataques herbívoros e infecções por fungos (BAILÃO *et al.*, 2015), pois a hipótese é que o nível de investimento é maior onde os recursos são mais escassos (ALBUQUERQUE, 2012).

2.2. Frutos do cerrado

Como um bioma com uma extensa variedade de espécies endêmicas, o cerrado apresenta uma gama de frutas exóticas que possuem características sensoriais peculiares e intensas, despertando o interesse dos consumidores e indústrias. Essas frutas são consumidas pela população da região na forma *in natura* e em alimentos processados, como sucos, sorvetes, pães e bolos. Tais

alimentos tem enorme importância na cultura local (MORZELLE, 2015).

Frutas, de um modo geral, são alimentos funcionais ricos em fitoquímicos que apresentam efeitos promotores da saúde e podem reduzir o risco de doenças crônicas. Dessa forma, esses alimentos podem agir regulando ações do organismo como o sistema inflamatório, a pressão sanguínea, os níveis de colesterol, entre outros (MIRMIRAN, 2014).

Além do interesse sensorial nos frutos do cerrado, existe o interesse na atividade biológica, pois evidências sugerem que na floresta seca as plantas medicinais são uma rica fonte de bioativos, que são diretamente responsáveis pela ação terapêutica, conferindo-lhes um valor funcional (ALBUQUERQUE, 2012).

O pequi (*Caryocar brasiliense*), por exemplo, apresenta importância comercial devido à presença de nutrientes como compostos fenólicos e fitoesteróis. Também foram detectados compostos com alto poder antioxidante na polpa do pequi como o ácido gálico, o ácido quínico, a quercetina e a quercetina 3-O-arabinose. Já o buriti (*Mauritia flexuosa*) é um fruto que tem altos níveis de fenólicos totais e carotenoides (precursores da vitamina A). Essa composição pode ser útil para o combate à deficiência de vitamina A em países subdesenvolvidos, como uma alternativa encontrada na dieta (BAILÃO *et al.*, 2015).

2.3. *Spondias mombin* L.

O cajá (*Spondias mombin* L.) é um membro da família Anacardiaceae, podendo ser encontrado nas áreas tropicais da América, Ásia e África. Esse fruto se apresenta como uma pequena drupa ovoide com fina pele amarelada e um sabor agri-doce (TIBURSKI *et al.*, 2011). Também é popularmente chamado de cajá, taperabá, cajá verdadeiro e cajá-mirim. Este fruto despertou o interesse dos pesquisadores por ter um alto potencial antioxidante e um alto teor de bioativos (BAILÃO *et al.*, 2015).

A caracterização de bioativos realizados no nordeste do país revelou a presença de fenólicos totais, dentre eles os flavonoides, flavonóis e taninos condensados, bem como vitamina C em polpas congeladas de cajá. Segundo a literatura, a quantidade de fenólicos totais presentes na polpa do cajá

apresenta uma maior concentração quando comparada a algumas frutas consumidas no Brasil. Além da caracterização dos bioativos, foi feita a quantificação da atividade antioxidante e os resultados apontaram o cajá como uma fruta com atividade antioxidante acima da média (TIBURSKI *et al.*, 2011).

Os bioativos presentes no cajá conferem-lhe atividades biológicas de interesse, já descrito por muitos autores. O cajá e o murici da Amazônia apresentaram efeitos citotóxicos em células cancerígenas do ovário em um estudo realizado *in vitro*, no qual o extrato contendo os bioativos levou à parada do ciclo celular e apoptose das células doentes (SOUZA *et al.*, 2019). Mais estudos precisam ser feitos para o desenvolvimento de novas estratégias quimioterapêuticas, nos quais os bioativos desses extratos possam atuar na promoção e prevenção da saúde.

Outro estudo verificou a ação gastroprotetora significativa do suco de cajá, que pode estar relacionado com um mecanismo ligado à ação antissecretora. Em ratos, o suco deste fruto foi eficaz na aceleração do processo de epiteliação da parede gástrica, demonstrando um enorme potencial como um alimento funcional (BRITO *et al.*, 2018).

O cajá é um fruto com atividades biológicas interessantes, porém, estudos incluindo partes como as cascas ou as sementes poderiam ser significativos do ponto de vista do valor funcional e ambiental, pois essas partes da fruta acabam sendo descartadas como resíduos nas indústrias. Melo e colaboradores (2016) quantificaram o teor de polifenóis totais em resíduos agroindustriais e identificaram uma concentração de $8,71 \pm 0,40$ mg EAG/g de semente liofilizada, demonstrando que esse resíduo poderia ser empregado como um subproduto da produção industrial.

Mais estudos seriam necessários para entender melhor o teor de compostos fenólicos das cascas e sua possível atribuição, uma vez que não são utilizadas com um fim alternativo. Portanto, o uso de subprodutos reduz o desperdício, convertendo os resíduos em resultados econômicos benéficos para a sociedade e meio ambiente (IRIONDO-DEHOND; DEL CASTILLO, 2018). Vodnar e colaboradores (2017) descreveram a importância da atividade biológica de subprodutos industriais, sugerindo que os resíduos de casca de maçã, polpa de cenoura, casca de uva vermelha e branca, e polpa/casca de beterraba possuem nutrientes e componentes antioxidantes, podendo ser uma

alternativa para formulação de alimentos com valor agregado, dentre outras aplicações.

2.4. Compostos Fenólicos

Compostos fenólicos pertencem a uma classe de compostos que inclui uma grande diversidade de estruturas, simples e complexas, que possuem no mínimo um anel aromático, em que pelo menos um hidrogênio é substituído por um grupamento hidroxila. Uma recente definição propôs que o termo “polifenóis” fosse usado apenas para metabólitos secundários vegetais derivados da via fenilpropanóide e/ou policetídeo. O mesmo apresenta mais de um anel fenólico e é desprovido de grupos funcionais baseados em nitrogênio (CHEYNIER; HALBWIRTH, 2017).

Essa substância é produzida por plantas e microrganismos, mas faz parte da cadeia alimentar dos animais, mesmo estes produzindo o anel benzênico em pouca quantidade (SANTOS, 2002). Os polifenóis apresentam diversos papéis funcionais nas plantas, incluindo resistência de plantas contra patógenos microbianos e animais herbívoros e proteção contra a radiação solar, que provavelmente foram fatores determinantes para a evolução das plantas, bem como a reprodução, nutrição e crescimento (QUIDEAU *et al.*, 2011). Além disso, auxiliam em papéis biológicos fundamentais como fotossíntese, suporte estrutural, transporte e adesão ao oxigênio (LIANG *et al.*, 2019).

Estes compostos podem ser formados a partir de duas rotas biogênicas: pela via do acetato-polimalato e pela via do ácido chiquímico a partir de carboidratos, formando vários metabólitos secundários, como mostra a figura 1. A rota determina a composição do composto fenólico resultante. Pela via do ácido chiquímico, os compostos terão grupos hidroxilas em posição orto. Já pela via do acetato-polimato, os grupos hidroxilas ficam dispostos em meta (SANTOS, 2002).

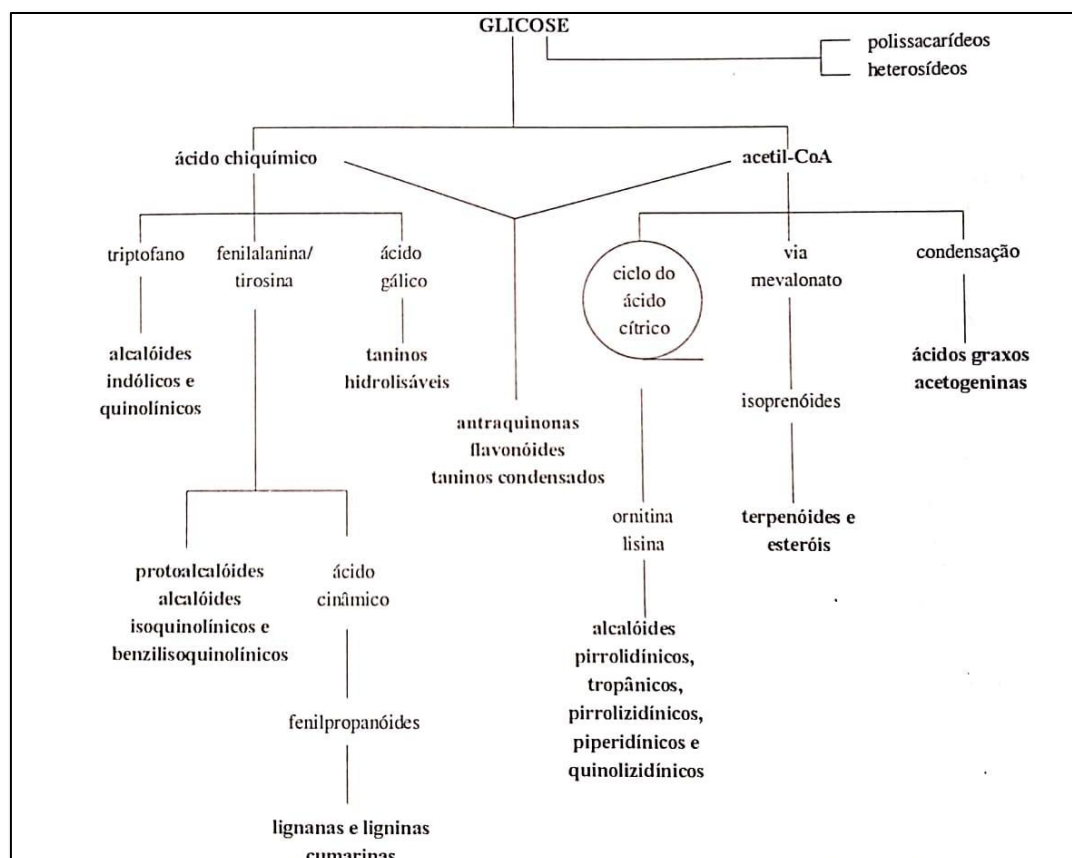


Figura 1. Biossíntese do metabolismo secundário (SANTOS, 2002).

A maioria dos compostos fenólicos é encontrada na forma de ésteres ou de heterosídeos, não na forma livre (BRAVO, 1998). Por serem compostos fenólicos, podem formar ligações de hidrogênio, sendo estas intramoleculares ou intermoleculares, o que é uma característica importante na ligação com proteínas. Portanto, são consideradas substâncias extremamente reativas e susceptíveis à oxidação, pois a energia de dissociação de ligação entre o hidrogênio e o oxigênio é considerada fraca, o que permite a produção de radicais fenoxil pela abstração de hidrogênio (QUIDEAU *et al.*, 2011).

A instabilidade desses compostos pode comprometer sua atividade biológica e suas propriedades benéficas. Portanto, seu comportamento sob diferentes condições deve ser avaliado e levado em consideração, uma vez que sua reatividade o torna sensível à estímulos térmicos, à luz, ao oxigênio, a solventes, à presença de enzimas, proteínas e íons metálicos ou associação com constituintes alimentares. Dentre esses estímulos, a degradação térmica dos compostos fenólicos é um aspecto que pode interferir substancialmente suas potenciais aplicações e por essa razão, deve ser melhor investigada (VOLF *et al.*, 2014). As antocianinas são um exemplo de compostos fenólicos

com baixa tolerância a altas temperaturas, tendo a degradação de sua estrutura e diminuição da atividade antioxidante observada por Oancea e colaboradores (2018) após procedimentos térmicos realizados no extrato de sabugueiro (*Sambucus nigra* L.).

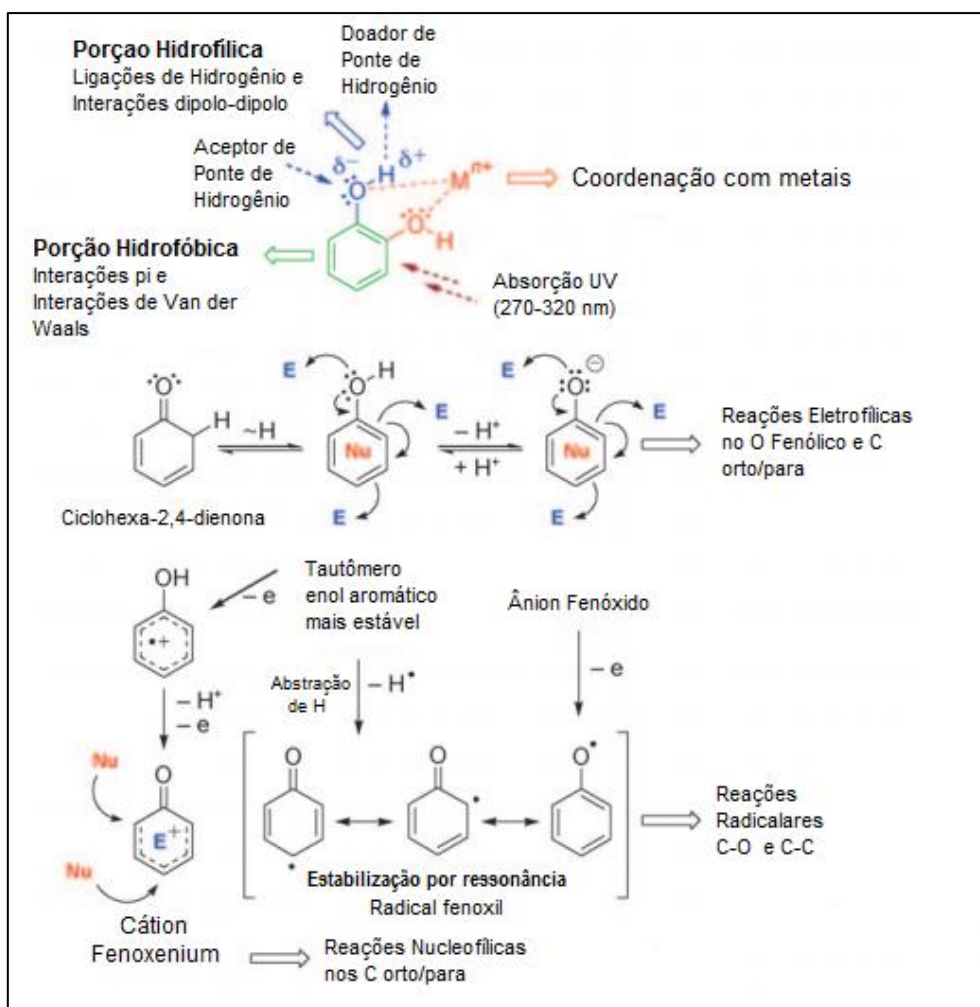


Figura 2. Propriedades físico-químicas básicas e reatividade do grupo funcional do fenol. E = Eletrófilo, Nu = Nucleófilo (adaptado de QUIDEAU *et al.*, 2011).

A forma estrutural primária desse composto é um anel fenólico contendo um grupo hidroxila. A parte fenólica tem caráter hidrofóbico, enquanto o grupo hidroxila tem caráter hidrofílico, que pode ser tanto um doador quanto um acceptor de ligações de hidrogênio. A presença de pelo menos dois grupos hidroxila adjacentes em um anel fenólico abre a porta para quelação de metais, como mostra o esquema 1. Além disso, muitos compostos fenólicos têm a absorção ultravioleta em torno de 270 a 320 nm, o que explica seu efeito protetor contra raios solares nas plantas. Os fenóis têm um caráter nucleofílico

suave e podem ter essa característica enfatizada por desprotonação em ânions fenóxidos, como resultado da acidez moderada da ligação OH, com pKa entre 8-12, em sistemas biológicos (QUIDEAU *et al.*, 2011).

Os compostos fenólicos são economicamente importantes, pois são amplamente usados na indústria alimentícia e farmacêutica. Alguns são aromatizantes, como a vanilina (KUNDU, 2017), e outros, como o ácido elágico, têm efeito anti-inflamatório em doenças crônicas, principalmente na colite ulcerativa, doença de Crohn, Alzheimer e diabetes (DEROSA; MAFFIOLI; SAHEBKAR, 2016). Além disso, muitos compostos fenólicos têm apresentado atividade antioxidante, o que sugere que essas substâncias poderiam proteger os sistemas biológicos contra reação oxidativa (CHEYNIER; HALBWIRTH, 2017).

A ação antioxidante que os compostos fenólicos existentes nas frutas apresentam podem diminuir a incidência de doenças degenerativas, como câncer, artrite, arterosclerose, doenças cardíacas, inflamação, disfunção cerebral e aceleração do processo de envelhecimento (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Além dessas funções, alguns compostos fenólicos apresentam ação de citoproteção, antimutagênica, antiestrogênica e antiangiogênica, entre outras (SUN; HEILMANN; KÖNIG, 2015).

2.5. Quitosana

A quitina deriva de conchas de caranguejos, camarão, outros crustáceos e alguns insetos (BEDIAN *et al.*, 2017). É considerada um dos polissacarídeos com maior taxa de produção na natureza, vindo logo após a celulose, e é um composto altamente biodegradável (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016).

Este polímero tem características extremamente relevantes, como biocompatibilidade, bioatividade e alta resistência mecânica. Porém, sua aplicação é limitada devido à sua baixa solubilidade. Essa característica desvia a atenção para o principal derivado da quitina, que é a quitosana (BEDIAN *et al.*, 2017).

A palavra quitosana se refere a uma combinação das duas formas do polímero: D-glucosamina e N-acetil-D-glucosamina, sendo, portanto, um copolímero obtido a partir da desacetilação da quitina (figura 3). O grau de

desacetilação é a razão entre as unidades, a forma acetilada (predominante na quitina) e a forma desacetilada (predominante na quitosana). Quando o grau atinge menos de 50% molar, a molécula passa a se chamar quitosana e torna-se solúvel em meio ácido aquoso (YOUNES; RINAUDO, 2015).

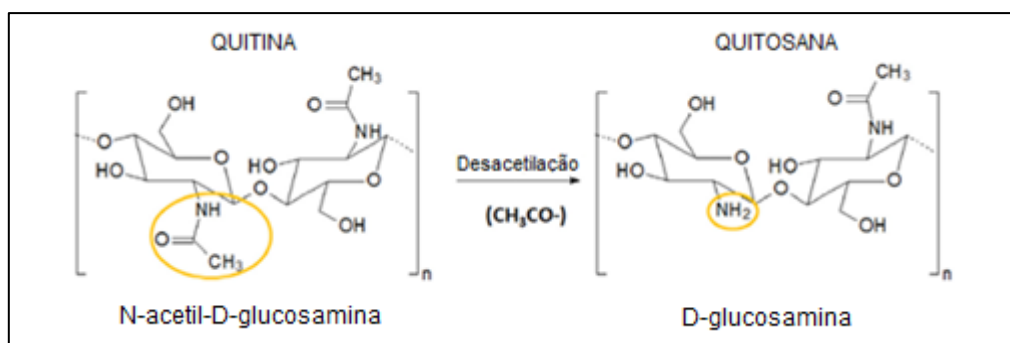


Figura 3. Estrutura química da quitina e da quitosana (adaptado de YOUNES; RINAUDO, 2015).

As unidades acetiladas podem formar ligações de hidrogênio e interações hidrofóbicas que estabilizam e fornecem certa rigidez à estrutura molecular. Já nas unidades desacetiladas, a glucosamina pode ser ionizada, o que lhe confere a característica de um polieletrólito catiônico, algo que destaca esta molécula no grupo dos biopolímeros (LIZARDI-MENDOZA; MONAL; VALENCIA, 2016).

A conversão de quitina em quitosana por meio de desacetilação pode ser feita de forma enzimática ou por meio de processos químicos. Os processos químicos através da desacetilação alcalina são mais frequentemente usados por conta do baixo custo e do alto rendimento para produção em massa (YOUNES; RINAUDO, 2015). Geralmente, o processo químico é feito tratando a quitina com hidróxidos em temperaturas acima de 80° C (MUXIKA *et al.*, 2017).

Como um polissacarídeo catiônico, a quitosana se mostra eficaz na construção de partículas com base em interações eletrostáticas, sendo assim um biopolímero adequado para a encapsulação de macromoléculas hidrofílicas, que se associam à quitosana por ligações de hidrogênio ou interações eletrostáticas. Esse biopolímero se mostra um material flexível, pois está disponível em diferentes pesos moleculares e graus de acetilação, permitindo um ajuste fino das características das partículas (JOYE;

MCCLEMENTS, 2014). Desse modo, a quitosana é um biopolímero que pode estabelecer diversas interações com compostos orgânicos e inorgânicos (LIZARDI-MENDOZA; MONAL; VALENCIA, 2016).

Sun e colaboradores (2017) relataram em seu estudo interações hidrofóbicas e ligações de hidrogênio entre a quitosana e os polifenóis do extrato de maçã (*Malus domestica*), não havendo indícios de ligações covalentes, sendo, portanto, interações com uma maior reversibilidade. As ligações de hidrogênio aconteceram entre o grupo OH dos compostos fenólicos com os grupos OH e NH da quitosana. Além disso, a adição dos compostos fenólicos ao filme de quitosana aumentou a espessura, densidade, solubilidade, o grau de intumescimento e opacidade do filme, além de diminuir o conteúdo de água.

A quitosana é amplamente empregada em sistemas de administração de medicamentos, pois pode ser utilizada na liberação controlada de fármacos (LIZARDI-MENDOZA; MONAL; VALENCIA, 2016; MUXIKA *et al.*, 2017; LECETA *et al.*, 2013).

Na área cosmética, a quitosana tem ação contra os efeitos dos raios solares, podendo ser usado em produtos orgânicos como um aditivo. Ademais, pode ser uma boa opção para o tratamento de água poluída por ser um agente quelante, entre outras diversas aplicações (MUXIKA *et al.*, 2017).

2.6. Microencapsulação

O aumento da demanda por produtos de valor agregado tem afetado as tendências do mercado global. Pensando em atender a estas demandas, novas técnicas têm sido desenvolvidas, como é o caso da micro e nanoencapsulação (PAULO; SANTOS, 2017). As principais áreas interessadas nessa tecnologia são as áreas farmacêutica e cosmética, onde uma das principais aplicações é a liberação controlada de medicamentos; e a área alimentícia, que faz uso da microencapsulação desde a produção de matéria prima até a fabricação e armazenamento de produtos finais (JOYE; MCCLEMENTS, 2014; CARVALHO; ESTEVINHO; SANTOS, 2016).

Joye e Mcclements (2014) classificam a diferença entre as nano e micropartículas através do tamanho, caracterizando as nano como partículas

que tenham até 100 nm. Dessa forma também é importante levar em consideração que a mudança no tamanho da partícula altera suas características físico-químicas. Portanto, escolher adequadamente o tamanho da partícula e o material que será utilizado é uma etapa essencial.

Micropartículas podem ser separadas em microcápsulas e microesferas (figura 4). A diferença essencial entre elas é que na microesfera o princípio ativo fica em uma matriz, preso entre os polímeros, sem ter um envoltório. Já a microcápsula é um sistema reservatório, ou seja, o princípio ativo fica no núcleo, enquanto o polímero envolve o material (PAULO; SANTOS, 2017).

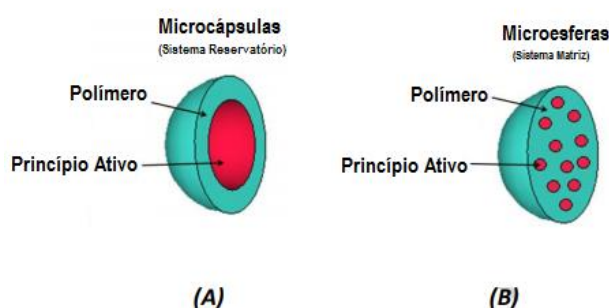


Figura 4. Estrutura das microcápsulas e das microesfera (adaptado de PAULO; SANTOS, 2017).

A microencapsulação é definida como sendo um procedimento no qual pequenas partículas ou gotículas, podendo ser um material líquido ou sólido, são envolvidas ou revestidas por um material polimérico. Este método pode ser utilizado para fornecer meios de converter líquidos em sólidos, para alterar os atributos coloidais e de superfície, para fornecer proteção ambiental e para controlar a liberação ou disponibilidade de materiais revestidos (BANSODE *et al.*, 2010).

No caso de micro e nanopartículas utilizadas na indústria, os materiais de revestimento podem ser biopolímeros, lipídios, surfactantes e minerais. Os biopolímeros são classificados de acordo com a estrutura da micropartícula, que está esquematizado na figura 5. Os materiais usados como biopolímeros podem ser proteínas, derivadas de animais ou plantas, e polissacarídeos, que são muito utilizados pelo baixo custo, pela biocompatibilidade e pela baixa toxicidade (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

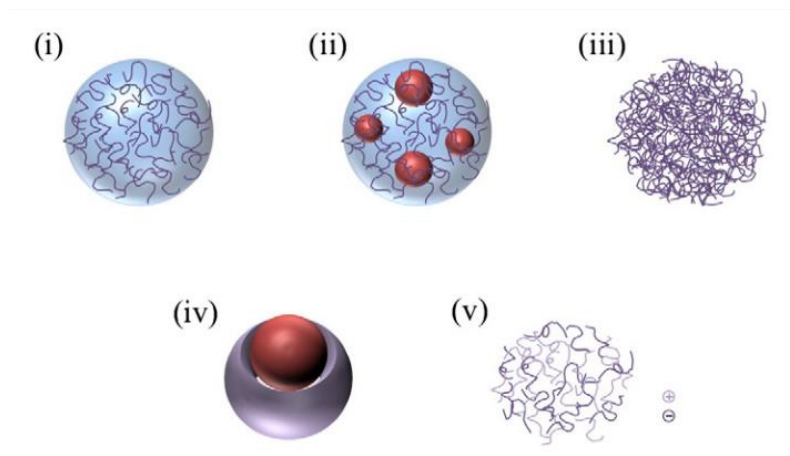


Figura 5. Partículas biopoliméricas podem se apresentar de variadas formas. As mais comuns são as partículas de hidrogel (i), partículas de hidrogel cheias (ii), partículas biopoliméricas (iii), complexos de inclusão (iv) e complexos polieletrólíticos (v) (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

As micropartículas podem ser obtidas a partir de diferentes processos. A principal diferença entre os métodos de encapsulação está na forma de aprisionamento do princípio ativo, podendo ser feita a partir de processos físicos, químicos ou físico-químicos. Para a escolha do processo adequado deve-se levar em consideração o tipo do material ativo, o mecanismo de liberação do mesmo e a aplicação (SUAVE *et al.*, 2006).

O *spray drying* é um dos métodos de microencapsulação baseado na secagem do material, de forma a protege o mesmo de hidrólise e outras degradações. A indústria usa este método com o intuito de encapsular compostos como flavonoides, vitaminas, minerais, corantes e óleos, por ser uma técnica simples, rápida e de baixo custo. Além disso, a microencapsulação também é utilizada em moléculas como ácidos graxos poliinsaturados, carotenoides e vitaminas, que passam por esse processo para evitar a oxidação, aumentando assim sua estabilidade (JOYE; MCCLEMENTS, 2014).

De forma geral, a microencapsulação leva a uma maior resistência de compostos sensíveis a estímulos externos, como no caso de curcuminoides, que são bioativos presentes na cúrcuma, onde foi relatada a proteção desses bioativos contra ações nocivas do calor, da luz e da oxidação, o que resulta em menores taxas de degradação dos fármacos (ANG; DARWIS; POR, 2019).

2.7. Micropartículas de quitosana

As micropartículas de quitosana podem ter diferentes aplicações devido às suas características estruturais e seus efeitos terapêuticos. Evidências mostram o aumento do efeito antimicrobiano de medicamentos para tuberculose quando há a adição de quitosana. Por esta razão, o emprego de micropartículas de quitosana com esses fármacos para o tratamento da tuberculose se mostrou promissor (VINSOVA; VAVŘÍKOVÁ *et al.*, 2011). Porém, apesar dos benefícios apresentados, um estudo de citotoxicidade feito *in vitro* mostrou que este polímero é tóxico para macrófagos alveolares, não sendo, portanto, um polímero indicado como veículo de drogas inalantes (BITENCOURT *et al.*, 2015).

Elas também podem ser interessantes para sistemas tópicos de liberação de fármacos devido a sua capacidade de proteger os princípios ativos da degradação (LIANG *et al.*, 2017) e restringir a penetração transdérmica do fármaco, devido ao tamanho de partícula (GELFUSO *et al.*, 2011).

Além dessas funcionalidades, as micropartículas de quitosana mostraram efetividade na conservação de compostos fenólicos em diferentes temperaturas, mostrando que a tecnologia de microencapsulação poderia ser eficiente na preservação desses compostos durante o armazenamento (CABRAL *et al.*, 2018).

Estudos com micropartículas de quitosana, obtidas a partir de *spray drying*, envolvendo o minoxidil mostraram um rendimento de até 45% no processo de encapsulação. Porém, mesmo sendo aparentemente baixo, o método se mostrou interessante por ser uma operação simples, ter reprodutibilidade e apresentar baixos níveis residuais de solvente orgânico, sendo menos tóxico quando comparado a outros métodos de encapsulação (GELFUSO *et al.*, 2011).

A capacidade mucoadesiva da quitosana também é uma propriedade importante para alguns sistemas, como, no carreamento de fármacos para tratamento de distúrbios oculares. Esse polímero tende a permanecer em contato com a mucosa ocular por mais tempo e aumentar a biodisponibilidade do medicamento, reduzindo assim a ocorrência de efeitos adversos por conta da absorção sistêmica da fração da preparação drenada pelo ducto nasolacrimal (GELFUSO *et al.*, 2015).

Como veículos de entrega oral, as micropartículas também podem ser úteis, pois a quitosana pode aumentar o tempo de retenção, aumentando o tempo de liberação do fármaco. Liang et. al. (2017) também descreveu que a micropartícula teve ação protetora para os polifenóis no trato gastrointestinal, o que a torna adequada para administração via oral.

3. Justificativa

É de se esperar que exista um alto teor de compostos fenólicos em frutos do cerrado, por conta das características únicas desse bioma (ALBUQUERQUE, 2012). O interesse nesses compostos é explicado pelos diversos benefícios que essas substâncias trazem à saúde tendo como um dos principais efeitos a ação antioxidante, que acaba prevenindo doenças degenerativas por proteger os sistemas biológicos contra reação oxidativa (SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015; SUN; HEILMANN; KÖNIG, 2015; CHEYNIER; HALBWIRTH, 2017). Porém, por conta da susceptibilidade desses bioativos à degradação oxidativa, sensibilidade à luz, metabolismo rápido, depuração sistêmica e hidrólise rápida em soluções alcalinas, existem enormes limitações para seu uso em modelos pré-clínicos e clínicos (ANG et al., 2019). Por essa razão, se torna importante o processo de microencapsulação no intuito de aumentar a estabilidade dessas moléculas (CABRAL et al., 2018), mantendo suas funções bioativas por mais tempo, evitando degradação térmica e mudanças negativas (HAMED; ÖZOGUL; REGENSTEIN, 2016; ALVIM et al., 2016). O polímero quitosana foi escolhido como agente encapsulador por conter características como: ser biodegradável, biocompatível e ter baixa toxicidade, além de ser uma matéria prima de baixo custo (GELFUSO et al., 2011). Esta é uma etapa inicial de uma forma de aplicação da microencapsulação na estabilidade térmica de compostos fenólicos extraídos das cascas do cajá, que é um subproduto da indústria alimentícia.

4. Objetivos

4.1. Objetivo geral

Microencapsular, caracterizar e avaliar a estabilidade das micropartículas formadas, contendo o extrato de casca do cajá (*Spondias mombim* L.) em diferentes condições de temperatura, por 30 dias.

4.2. Objetivos específicos

- Obter micropartículas contendo o extrato da casca do cajá;
- Avaliar as características físico-químicas das micropartículas;
- Avaliar a estabilidade das micropartículas quanto ao conteúdo de polifenóis totais em 3 temperaturas diferentes ($4^{\circ} \pm 2^{\circ}$ C, $25^{\circ} \pm 3^{\circ}$ C e 40° C com 70% de umidade) e períodos diferentes (0, 7, 14 e 30 dias após o início do estudo de estabilidade).

5. Metodologia

5.1. Amostras

Os frutos de cajá (*Spondias mombin* L.) foram provenientes da Embrapa Cerrados (CPAC), Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa), localizada em Planaltina (DF) (segundo as coordenadas geográficas, 15º 35' 30" de latitude Sul e 47º 42'00" de longitude a Oeste de Greenwich). A área enquadra-se no bioma cerrado, com solo caracterizado como Latossolo Vermelho-Escuro, textura muito argilosa, em relevo praticamente plano, sob Cerrado Ralo.

As amostras foram coletadas quando os frutos estavam prontos para a colheita. A unidade experimental foi composta por aproximadamente 200 frutos. Os frutos foram descascados manualmente e as cascas colocadas em temperatura ambiente, ao abrigo da luz, por 24 horas, para diminuir a umidade proveniente da polpa do fruto. A partir das cascas foi elaborado o extrato etanólico.

5.2. Elaboração do extrato de cajá

O extrato das cascas de cajá foi elaborado conforme a metodologia descrita por Lees e Francis (1972), com adaptações. O etanol foi adicionado às cascas de cajá, na proporção de aproximadamente 1:2 (peso casca fresca/solvente), e colocados para maceração durante sete dias sob refrigeração e ao abrigo da luz. Após isso, o extrato foi filtrado e armazenado em frasco âmbar, sob refrigeração.

O extrato etanólico das cascas do cajá foi utilizado para a quantificação de polifenóis totais e obtenção das micropartículas.

5.3. Quantificação de fenólicos totais no extrato de cajá

A quantificação fenólica dos extratos foi realizada através de análise espectrofotométrica (Hitachi, modelo U-3900H), sendo avaliada a partir do método de Folin-Ciocalteu. Os cálculos foram feitos segundo a curva padrão de ácido gálico e os resultados foram expressos em equivalente de ácido gálico (EAG) por 100g da casca do cajá (SINGLETON e ROSSI, 1965).

5.4. Obtenção de micropartículas de quitosana contendo extrato de cajá

A quitosana de peso molecular médio, com desacetilação entre 75% e 85%, adquirida na Sigma-Aldrich (Steinheim, Alemanha), foi utilizada como polímero para a microencapsulação. As micropartículas foram produzidas por meio de atomização, segundo o método de Gelfuso (2011) com adaptações de Cabral (2018), no qual 16g da quitosana foi dissolvida em 800 mL da solução aquosa a 1% (v/v) de ácido acético, e 4,67g do extrato (peso seco em 200mL) foi incorporado à solução, sendo deixada sob agitação por 24 horas.

Após esse período, a solução contendo quitosana e extrato etanólico foi processada pelo *spray drier* (Labmaq, modelo MSD 1.0). O fluxo de ar quente utilizado foi de 4,5 m³ (fixo), com a temperatura de entrada de 140° C e a temperatura de saída de aproximadamente 99° C. O fluxo de vazão foi de aproximadamente 0,7 litros por minuto, através de um bico atomizador pressurizado de 1,0 mm de diâmetro, com o ar de atomização a 30 litros por minuto (GELFUSO *et al.*, 2011; CABRAL *et al.*, 2018).

5.5. Caracterização das micropartículas

5.5.1. Rendimento da microencapsulação

Após a obtenção das micropartículas por *spray drying*, as mesmas foram pesadas e o rendimento do processo foi calculado como porcentagem em função da quantidade de sólidos adicionados durante o processo de preparação (GELFUSO *et al.*, 2011), segundo a equação 1:

$$R\% = (Q_f / Q_i) \times 100 \quad (\text{Equação 1})$$

onde R% é o rendimento de encapsulação, Q_f é o quantitativo total obtido no final do processamento e Q_i é o quantitativo de sólidos presentes no início do processamento das micropartículas.

5.5.2. Eficiência de encapsulação

Para determinação da eficiência de encapsulação, foi avaliada a

quantidade de polifenóis totais encapsulados nas micropartículas de quitosana a partir do método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) adaptado por Cabral *et al.* (2018), no qual as micropartículas foram deixadas 24 horas sob agitação em uma solução de ácido acético a 1%. Antes da leitura em um espectrofotômetro a 760 nm, as amostras foram centrifugadas durante 10 minutos a 4000 rpm (Hettich Zentrifugen, modelo EBA 20). O cálculo da eficiência de encapsulação foi feito segundo a equação 2:

$$EE\% = (Q_{\text{obtida}} / Q_{\text{teórica}}) \times 100 \quad (\text{Equação 2})$$

onde EE% é a eficiência de encapsulação de compostos fenólicos na micropartícula, Q_{obtida} é a quantidade de polifenóis totais presente dentro das micropartículas após o processamento e $Q_{\text{teórica}}$ é a quantidade de polifenóis totais que foi adicionado para microencapsulação.

5.5.3. Morfologia

Para a análise morfológica e a visualização da distribuição de tamanho das micropartículas, foram obtidas fotomicrografias, utilizando o microscópio eletrônico de varredura (MEV Jeol JSM-7000F), com aproximadamente 10 mg da amostra previamente metalizada com ouro. A amostra foi analisada em aumentos de 1000 a 5000 vezes (TAO *et al.*, 2018).

5.5.4. Estudo de estabilidade

As micropartículas foram avaliadas quanto ao teor de polifenóis totais nos períodos de 1, 7, 14, 30 dias após a elaboração, nas temperaturas ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{ C}$), refrigerada ($4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$) e temperatura estressante na câmara climática (40° C , 70% de umidade). As amostras foram armazenadas sob o abrigo da luz e em eppendorfs separados para cada dia de análise, para diminuir a interferência da luz e do ar. Para a análise utilizou-se o método de Folin-Ciocalteu (SINGLETON e ROSSI, 1965) com as adaptações descritas anteriormente (CABRAL *et al.*, 2018).

5.5.5. Análise estatística

Todas as análises foram realizadas com duas repetições e em triplicata. ANOVA, Análise de Correlação e Teste Tukey HSD foram realizados no programa STATISTICA 10.0. admitindo nível de significância de 5% ($p < 0,05$).

6. Resultados e Discussão

6.1. Quantificação de fenólicos totais do extrato da casca do cajá

O valor quantificado de polifenóis totais na casca do cajá proveniente do cerrado foi de $557,65 \pm 29,73$ mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por 100 g de casca fresca (mg EAG/100 g).

Segundo Bataglion e colaboradores (2015) a caracterização dos compostos fenólicos da polpa do cajá demonstrou a presença de ácido gálico ($577,03 \pm 4,96$ µg/g de polpa seca) e quercetina ($119,77 \pm 2,24$ µg/g de polpa seca), sendo estes os predominantes. Soares e colaboradores (2019) identificaram a presença de ácido elágico, ácido vanílico-O-hexosídeo, ácidos hidroxicinâmicos e seus derivados, quercetina e quercetina-7-O-glucosídeo. Entretanto, os compostos fenólicos presentes na casca do cajá podem ser distintos dos presentes na polpa, portanto mais estudos precisam ser realizados.

Pesquisas apontam um alto teor de polifenóis totais em frutas tropicais, dentre elas o cajá também se destaca, demonstrando uma proporção desses bioativos tanto na casca, como comprovado no presente estudo, quanto na polpa, apontado em outros trabalhos (BATAGLION *et al.*, 2015; TIRBUSKI *et al.*, 2011). Bataglion e colaboradores (2015) realizaram a quantificação de várias espécies de frutas tropicais do Brasil e demonstraram que o cajá apresentou uma maior quantidade de compostos fenólicos ($712,72 \pm 8,71$ µg/g de polpa seca) do que foi encontrado nas seguintes espécies: açaí-do-Amazonas (*Euterpe precatória*) com $264,53 \pm 10,56$ µg/g de polpa seca, no caju (*A. occidentale*) com $378,36 \pm 5,43$ µg/g de polpa seca, na acerola (*Malpighia emarginata*) com $67,00 \pm 7,46$ µg/g de polpa seca e no abacaxi (*Ananas comosus*) com $48,69 \pm 3,46$ µg/g de polpa seca. Em um estudo com cascas de jabuticaba (*Plinia cauliflora*) nativas do cerrado, foi relatado uma concentração de $\sim 1147,36$ mg EAG/100g de casca fresca (CABRAL *et al.*, 2018), sendo este mais um indicativo do alto teor de compostos bioativos em frutos desse bioma, principalmente nas cascas, assim como o cajá.

O uso das cascas de cajá para a pesquisa de compostos bioativos é relevante, pois essa parte é considerada um resíduo da produção industrial, sendo descartada. Dessa forma, uma das estratégias para a mudança desse

cenário é a valorização dos subprodutos alimentares, principalmente por meio da pesquisa da atividade desses resíduos. Por essa razão, a utilização de subprodutos, reduzindo o desperdício, pode ser convertida em resultados econômicos e benéficos para a sociedade e meio ambiente (IRIONDO-DEHOND; DEL CASTILLO, 2018).

Vodnar e colaboradores (2017) descreveram a importância da atividade biológica de subprodutos industriais, sugerindo que os resíduos de casca de maçã (*Malus domestica*), polpa de cenoura (*Daucus carota* subsp. *sativus*), casca de uva vermelha (*Vitis labrusca* 'Isabella') e branca (*Vitis vinifera* 'Fetească Regală') e polpa/casca de beterraba (*Beta vulgaris*) detêm nutrientes e componentes antioxidantes, podendo ser uma alternativa para formulação de alimentos com valor agregado, dentre outras aplicações.

Um exemplo da utilização de subprodutos da indústria é a utilização da casca de rambutan (*Nephelium lappaceum*), que tem um teor de 546,98 mg EAG/100 g de casca, que é semelhante ao valor encontrado para as cascas do cajá. Sua utilização na indústria é majoritariamente para fins não alimentares que inclui aplicações como biossorvente, carvão ativado, biocompósito e síntese biomimética, sendo 10% utilizado para fins alimentícios como gel de polissacarídeos (CHEOK *et al.*, 2016).

6.2. Caracterização das micropartículas

6.2.1. Rendimento da microencapsulação e eficiência de encapsulação

O rendimento de encapsulação do extrato etanólico da casca de cajá com a quitosana foi de 19,5% e a eficiência de encapsulação foi 55,4%, sendo o teor de polifenóis igual a $149,59 \pm 4,3$ mg EAG/g de micropartícula. Uma possível resposta para esse resultado, segundo Ji, Ding e Yang (2009), é embasada em uma das propriedades da quitosana, que forma filme com muita facilidade, quando seca em superfície lisa, diminuindo o rendimento.

Cabral e colaboradores (2018) realizaram um estudo com micropartículas obtidas a partir de *spray drying*, contendo extrato etanólico da casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), mostrando um rendimento de até 40% e eficiência de encapsulação de até 89,74%. Esse resultado foi obtido através da

quantificação de compostos fenólicos encapsulados. Já outro estudo realizado com micropartículas de quitosana, também obtidas a partir do mesmo método, contendo extrato fenólico de casca de seriguela (*Spondias purpurea* L.), mostrou um rendimento de 16,99%, que é considerado baixo (QUINTÃO, 2016).

Estudos com micropartículas de quitosana, obtidas a partir de *spray drying*, envolvendo o minoxidil mostraram um rendimento de até 45% no processo de encapsulação. Porém, mesmo sendo aparentemente baixo, o método se mostrou interessante por ser uma operação simples, ter reprodutibilidade de lote para lote e apresentar baixos níveis residuais de solvente orgânico, sendo menos tóxico em comparação a outros métodos de encapsulação (GELFUSO *et al.*, 2011).

Além disso, o rendimento das micropartículas está dentro do esperado em virtude do tipo de equipamento utilizado e do tamanho de partícula formada, pois a separação entre o ciclone de ar (parte do equipamento por onde as micropartículas passam após a secagem) e as partículas é dificultada quando o tamanho das mesmas é muito pequeno, causando uma diminuição no rendimento do produto. A produção em pequena escala dessas micropartículas a partir do *spray drier*, como é o caso do presente estudo, podem estar ligadas ao baixo rendimento (GONÇALVES *et al.*, 2017), pois em escala industrial a perda de material pode ser menos significativa (GELFUSO *et al.*, 2011).

A diferença entre a composição química das frutas (cajá, jabuticaba e seriguela) e do minoxidil também podem estar relacionadas com os diferentes resultados obtidos para o rendimento. A eficiência de encapsulação obtida no presente estudo foi considerada dentro do esperado, mesmo sendo menor do que o obtido por Cabral e colaboradores (2018), pois a jabuticaba apresenta um maior teor de polifenóis totais do que o cajá.

6.2.2. Morfologia

A análise da morfologia das micropartículas formadas foi possível por meio de fotomicrografias geradas por microscopia de varredura eletrônica (MEV). Na Figura 7A, pode-se observar que essas apresentaram formato de

esferas de tamanhos variados com superfície enrugada ou lisa, como mostra a Figura 7B e Figura 7C. A Figura 6 revela micropartículas de quitosana sem conteúdo, que demonstraram um aspecto enrugado e homogêneo. Cabral e colaboradores (2018) descreveram que com a adição do extrato, as micropartículas demonstraram uma superfície mais lisa, como revela as micropartículas na Figura 7B, que em comparação com a figura 6A demonstraram uma superfície com aspecto mais liso, indicando uma interação entre o polímero quitosana e os componentes do extrato.

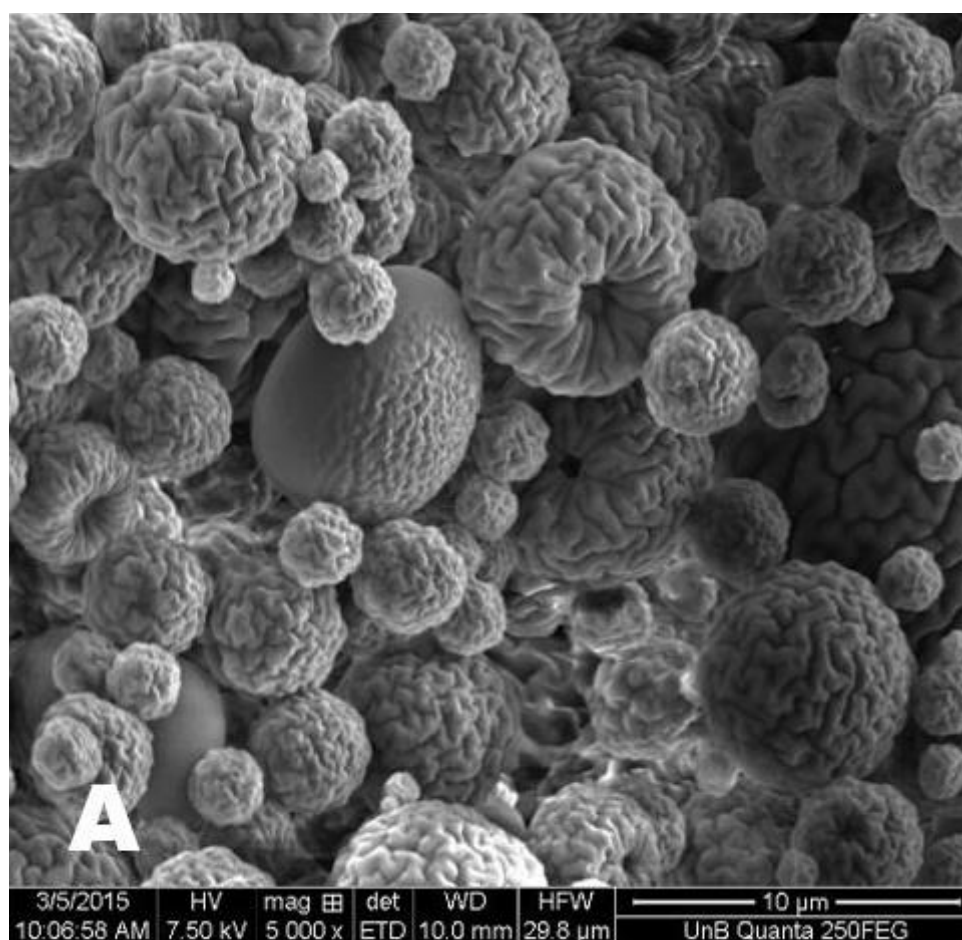
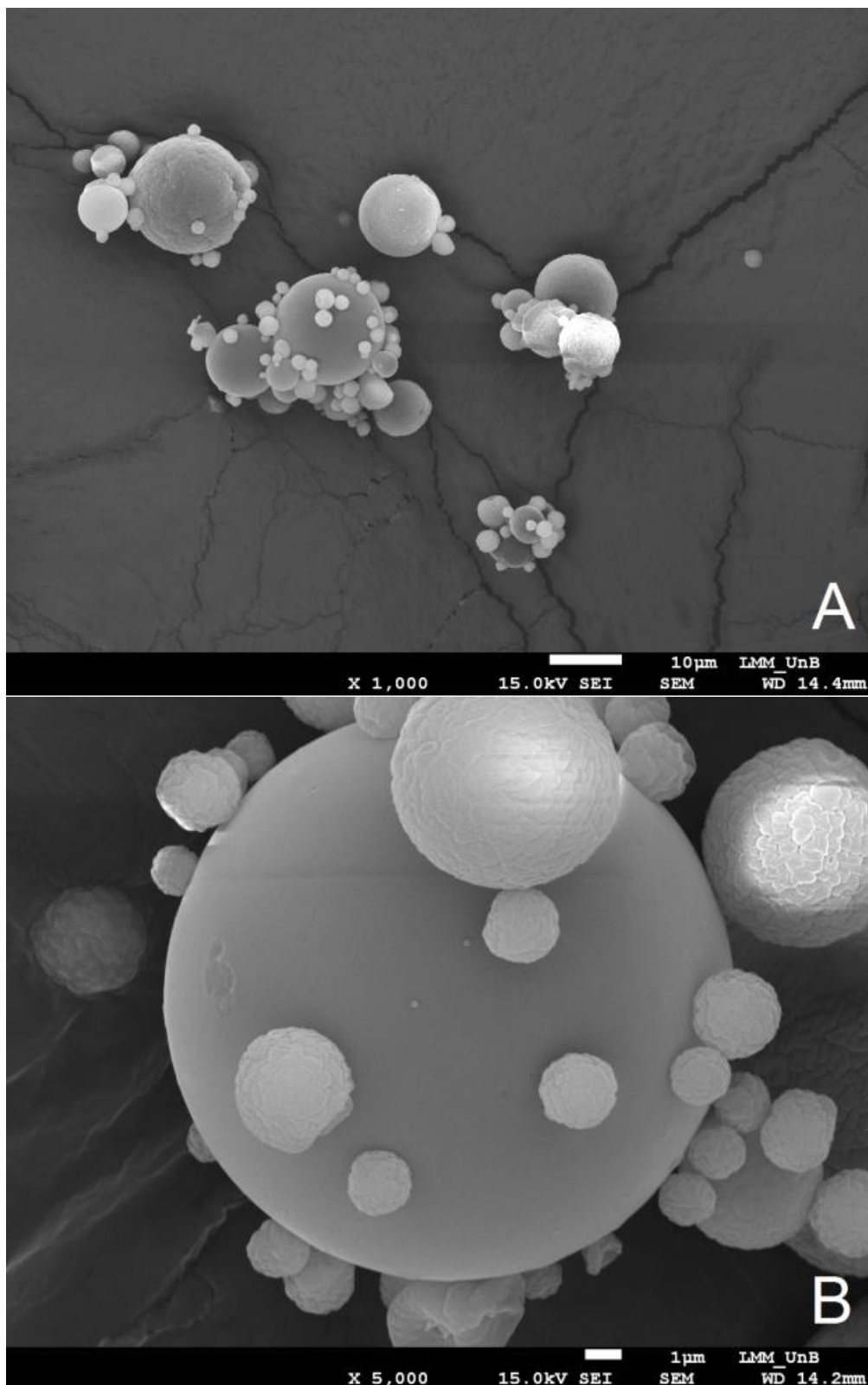


Figura 6. Fotomicrografia de micropartículas de jabuticaba obtidas por *spray drying* utilizando quitosana como agente encapsulador. Ampliação de 5.000 vezes. A: MP0 – não contém o extrato da casca da jabuticaba (adaptado de Cabral *et al.*, 2018).

Outro estudo relatou a formação de micropartículas de quitosana com manitol em seu conteúdo, no qual o formato foi esférico e com superfície lisa, demonstrando uma morfologia bem definida (AL-QADI; TEBOADA; REMUÑÁN-LÓPEZ, 2018), sendo, em alguns aspectos, semelhantes às micropartículas obtidas com o cajá no presente estudo, que também tem a

morfologia bem definida com o formato esférico.



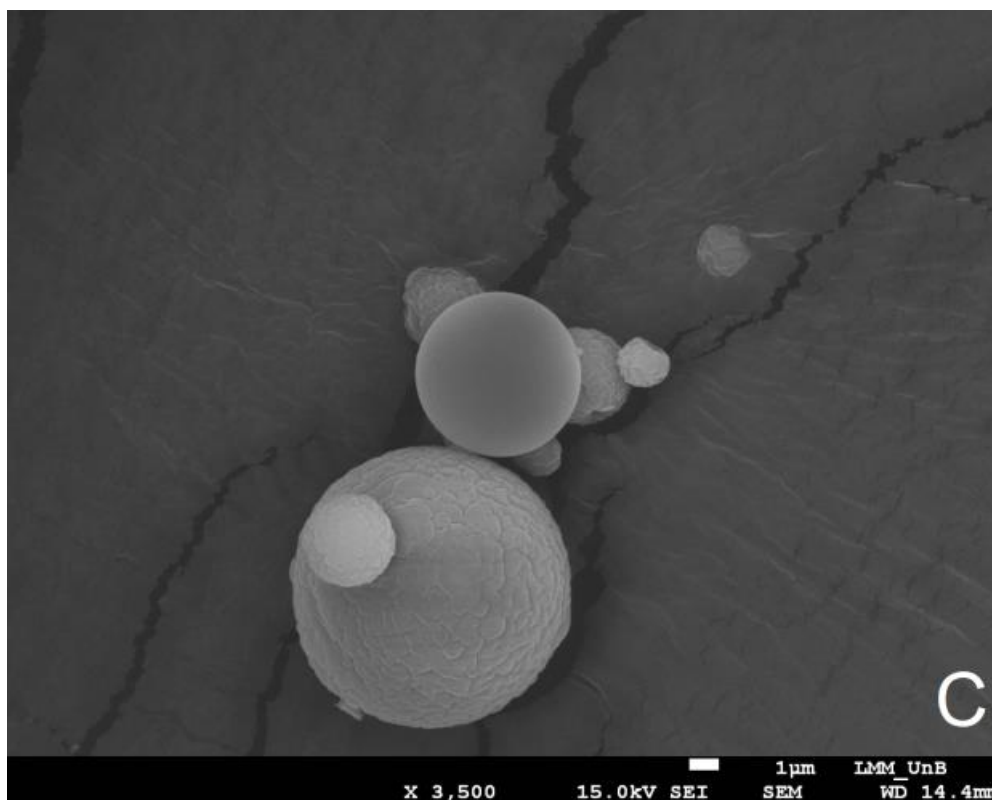


Figura 7. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura em aumentos de 1.000 a 5.500 vezes para as micropartículas contendo extrato de casca de cajá (imagens autorais).

Estudos com micropartículas contendo extrato fenólico de pétala de açafrão (*Crocus Sativus* L.), formadas a partir de spray drying, utilizando a maltodextrina como polímero, demonstraram o mesmo padrão na morfologia, apresentando micropartículas de formato esférico, com tamanhos diferentes e superfície sem rachaduras. A ausência de rachaduras proporciona menor permeabilidade da parede, que diminui a interação com o ar e fornece maior proteção ao conteúdo encapsulado (DESAI *et al.*, 2019). Além disso, superfícies lisas diminuem a interação com outras partículas, o que pode ser um atributo interessante em determinadas aplicações (GONÇALVES *et al.*, 2017). Por outro lado essas características podem ser uma inconveniência para a remoção do conteúdo retido na micropartícula (AHMADIAN; NIAZMAND; POUFARZAD, 2019).

6.2.3. Estudo de estabilidade

O estudo de estabilidade foi realizado submetendo as micropartículas a três diferentes condições de temperatura durante 30 dias: em temperatura

ambiente ($25^{\circ} \pm 3^{\circ} \text{ C}$), refrigeração ($4^{\circ} \pm 2^{\circ} \text{ C}$) e a temperatura estressante (40° C , com 70% de umidade), e foi avaliado através da quantificação do teor de polifenóis totais das micropartículas contendo o extrato etanólico da casca do cajá. As análises de estabilidade dos compostos fenólicos foram realizadas no dia em que as amostras foram colocadas para o teste de estabilidade, no sétimo dia, no décimo quarto dia e no trigésimo dia. Os resultados dessas análises são apresentados na Figura 1.

Foi identificado que as micropartículas submetidas à temperatura ambiente e refrigerada mantiveram-se estáveis entre o primeiro e o sétimo dia, com uma retenção de aproximadamente 100%. As micropartículas que permaneceram sob temperatura estressante (40° C , 70% de umidade) apresentaram, nesse mesmo período, uma retenção de ~85%. Verificou-se diferença estatística ($p \leq 0,05$) entre o teor de polifenóis totais das micropartículas mantidas a temperatura estressante e as demais, na qual foi verificada uma maior degradação quando a micropartícula foi exposta a 40° C , com 70% de umidade.

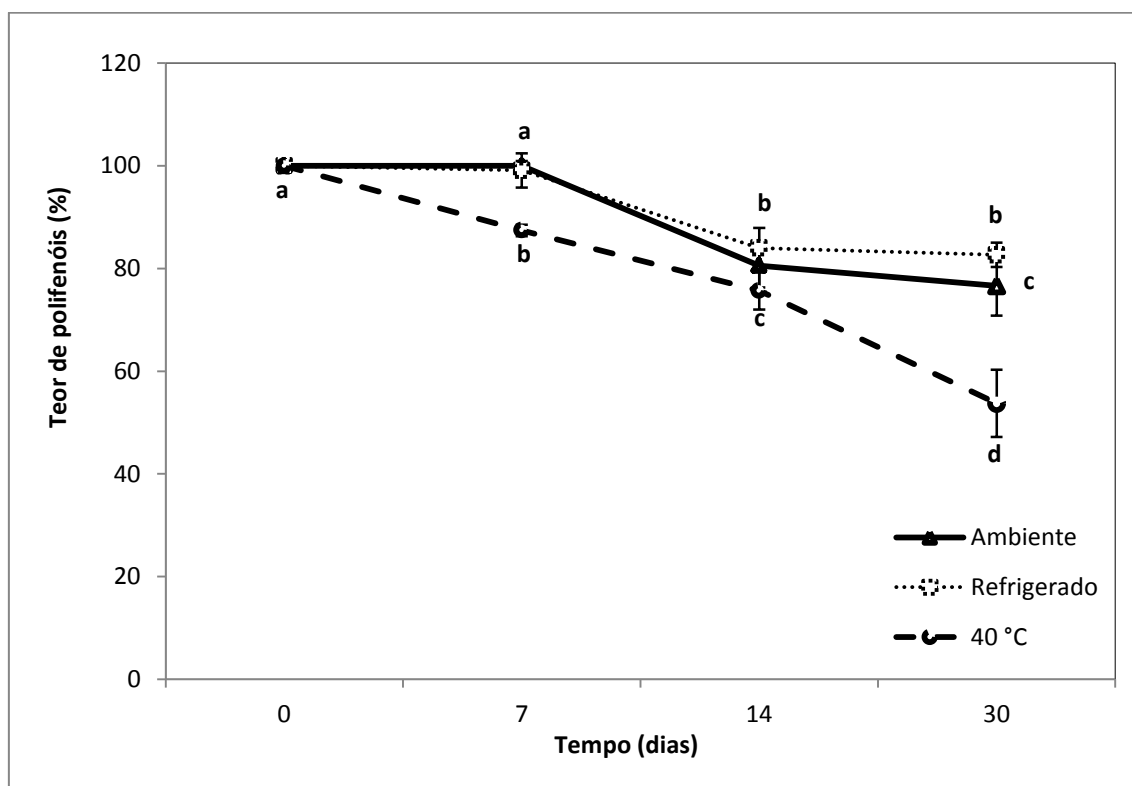


Figura 8. Teor de polifenóis totais (%) do extrato de casca do cajá microencapsulado submetidos a diferentes condições de temperatura: temperatura ambiente ($\sim 25^{\circ} \text{ C}$), refrigeração ($\sim 2^{\circ}$ a 6° C) e temperatura estressante (40° C , umidade de 70%) durante 30 dias.

*Letras diferentes (a,b,c,d,) representam diferença estatística significativa entre as análises, nível de significância de 5% (Teste de Tukey).

Após 14 dias do início do teste de estabilidade, as micropartículas submetidas à refrigeração e temperatura ambiente não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre o período de 7 e 14 dias, com uma redução de ~20%. Esse resultado sugere que os compostos fenólicos presentes nas micropartículas estão sendo igualmente conservados sob refrigeração e em temperatura ambiente até o dia 14 do estudo de estabilidade. Já em temperatura estressante, a redução do teor de polifenóis foi de ~25%, demonstrando uma menor estabilidade ($p \leq 0,05$).

Ao final do teste de estabilidade, no trigésimo dia, as micropartículas refrigeradas apresentaram uma retenção de ~85%, sendo este sistema o mais eficiente na conservação dos compostos fenólicos ($p \leq 0,05$). Já em temperatura ambiente, a retenção no trigésimo dia foi de ~75%. Em temperatura estressante, as micropartículas apresentaram uma perda gradual desde o dia 7, perdendo ~45% do teor de polifenóis totais em 30 dias, sendo a temperatura na qual houve a maior degradação desses compostos ($p \leq 0,05$).

As micropartículas submetidas à temperatura ambiente e refrigerada demonstraram o mesmo comportamento até o dia 14, sem expressar diferença estatística ($p > 0,05$) entre as temperaturas, mantendo uma maior estabilidade entre os dias 0 e 7, e manifestando uma perda mais expressiva do conteúdo fenólico entre os dias 7 e 14. Ao final do teste de estabilidade, após 30 dias, houve um platô, no qual a degradação dos compostos fenólicos se mostrou mais branda nessas duas temperaturas. Porém as micropartículas refrigeradas demonstraram diferença estatística ($p \leq 0,05$), comparado com as que permaneceram em temperatura ambiente, sendo as refrigeradas as mais eficientes na conservação do conteúdo microencapsulado.

Um estudo avaliou a estabilidade de micropartículas de quitosana contendo extrato de casca de jabuticaba (*Plinia cauliflora*), no qual as micropartículas (submetidas à temperatura ambiente, refrigerada e estressante) demonstraram uma retenção de ~100% até o dia 30 (CABRAL *et al.*, 2018). Diferente do presente estudo, em que as micropartículas apresentaram redução desde o décimo quarto dia do teste de estabilidade ($p \leq 0,05$). Isso pode

ser explicado pelo alto teor de polifenóis que a jabuticaba possui, em comparação ao cajá.

Quintão e colaboradores (2016) avaliaram a estabilidade de micropartículas de quitosana contendo extrato de cascas de seriguela (*Spondias purpurea* L.) e demonstraram que não houve degradação dos compostos fenólicos até o dia 30 sob condições de refrigeração, diferente dos resultados do atual estudo, onde as micropartículas refrigeradas apresentaram degradação a partir do dia 14 ($p \leq 0,05$). Apesar disso houve degradação dos polifenóis totais das micropartículas contendo o extrato de cascas de seriguela (*Spondias purpurea* L.) que permaneceram em temperatura ambiente, a partir do décimo quarto dia, apresentando diferença estatística ($p \leq 0,05$) (QUINTÃO *et al.*, 2016), sendo este o mesmo comportamento das micropartículas contendo extrato de cajá, uma vez que a concentração de compostos fenólicos é semelhante nas cascas dessas duas frutas.

Tais resultados demonstraram a ação da temperatura na degradação dos compostos fenólicos, bem como foi apresentado nas micropartículas contendo extrato de cajá. Os estudos de estabilidade de micropartículas com diferentes extratos (CABRAL *et al.*, 2018; QUINTÃO *et al.*, 2016) demonstraram tendências diferentes da degradação dos compostos fenólicos, podendo ser decorrentes de características físico-químicas dos diferentes frutos.

Yingngam e colaboradores (2018) descreveram a estabilidade térmica de micropartículas de maltodextrina com o extrato de *Antidesma puncticulatum* Miq. (uma fruta tailandesa), onde as mesmas foram armazenadas a 4° C, 25° C e 45° C. Sob 4 e 25° C, houveram pequenas alterações no conteúdo total de antocianina, demonstrando uma retenção de ~90% e ~80%, respectivamente, no final do estudo (trigésimo dia). Os resultados descritos por esses pesquisadores foram semelhantes aos obtidos no presente estudo, no qual a refrigeração aumentou a retenção de compostos fenólicos (teor de 83%) em relação à temperatura ambiente (teor de 77%) entre as duas temperaturas testadas ($p \leq 0,05$). Já em temperatura de 45° C, as micropartículas de maltodextrina com o extrato de *Antidesma puncticulatum* Miq. retiveram ~50% do conteúdo de antocianinas no trigésimo dia ($p \leq 0,05$). Os resultados apresentados por esses autores foram similares às micropartículas contendo o

extrato de cajá que foram submetidas à temperatura de 40°C, que retiveram 54% do conteúdo fenólico. Apesar dos resultados demonstrarem a sensibilidade dos compostos a altas temperaturas, mais estudos precisam ser realizados com um maior período de armazenamento e em relação a outras variáveis que podem contribuir para a degradação desses compostos, como a interação com o ar e incidência da luz.

7. Conclusão e Considerações finais

Foi possível a elaboração das micropartículas contendo o extrato da casca do cajá, com o rendimento e eficiência de encapsulação dentro do esperado. A morfologia e aspectos físicos foram avaliadas a partir do MEV, no qual foi constatada a formação das micropartículas, em que foi observado formatos esféricos com superfícies lisas e enrugadas, e tamanhos diversos.

Além disso, foi verificado que as micropartículas submetidas à temperatura de refrigeração apresentaram o melhor resultado no teste de estabilidade no fim dos 30 dias, tendo um teor de retenção dos compostos fenólicos de aproximadamente 83%. Os compostos fenólicos microencapsulados sofrem deterioração quando estão em temperaturas mais altas, como foi visto nas micropartículas que permaneceram em temperatura ambiente e em temperatura estressante, que reteram ~77% e 54%, respectivamente, após os 30 dias. A maior perda do conteúdo fenólico em temperatura ambiente e refrigerada foi entre os dias 7 e 14, já em temperatura estressante a maior perda foi observada dos dias 14 ao dia 30.

Mais estudos precisam ser feitos sobre a estabilidade dessas micropartículas, com um maior tempo de armazenamento em condições diferentes e também em comparação ao extrato não encapsulado, para entender melhor o comportamento e avaliar se há a proteção desses compostos quando microencapsulados.

A casca do cajá se mostrou interessante para o processo de microencapsulação, uma vez que como um subproduto da indústria ainda retém compostos fenólicos, que lhe conferem valor funcional. A utilização de produtos que sobram do processo industrial para outros fins é benéfico do ponto de vista econômico, ambiental e social. Na indústria alimentícia, farmacêutica e cosmética, manter a estabilidade desses compostos e agregar valor aos produtos é de grande importância, uma vez que suas propriedades são funcionais e contribuirão para a saúde humana.

8. Referências Bibliográficas

AHMADIAN, Zahra; NIAZMAND, Razieh; POURFARZAD, Amir. Microencapsulation of Saffron Petal Phenolic Extract: Their Characterization, In Vitro Gastrointestinal Digestion, and Storage Stability. **Journal Of Food Science**, [s.l.], v. 84, n. 10, p.2745-2757, 23 set. 2019. Wiley.

ALBUQUERQUE, Ulysses Paulino; RAMOS, Marcelo Alves; MELO, Joabe Gomes. New strategies for drug discovery in tropical forests based on ethnobotanical and chemical ecological studies. **Journal Of Ethnopharmacology**, [s.l.], v. 140, n. 1, p.197-201, mar. 2012. Elsevier BV.

AL-QADI, Sonia; TABOADA, Pablo; REMUÑÁN-LÓPEZ, Carmen. Micro/nanostructured inhalable formulation based on polysaccharides: Effect of a thermoprotectant on powder properties and protein integrity. **International Journal Of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 551, n. 1-2, p.23-33, nov. 2018. Elsevier BV.

ALVIM, Izabela Dutra *et al.* Comparison between the spray drying and spray chilling microparticles contain ascorbic acid in a baked product application. **Lwt - Food Science And Technology**, [s.l.], v. 65, p.689-694, jan. 2016. Elsevier BV.

ANG, Lee Fung *et al.* Microencapsulation Curcuminoids for Effective Delivery in Pharmaceutical Application. **Pharmaceutics**, v. 11, n. 9, p. 451, 2019.

BAILÃO, Elisa *et al.* Bioactive Compounds Found in Brazilian Cerrado Fruits. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 16, n. 10, p.23760-23783, 9 out. 2015. MDPI AG.

BANSODE, S. S. *et al.* Microencapsulation: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research**, v. 1, n. 2, p. 38-43, 2010.

BATAGLION, Giovana A. *et al.* Determination of the phenolic composition from Brazilian tropical fruits by UHPLC–MS/MS. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 180,

p.280-287, ago. 2015. Elsevier BV.

BEDIAN, Luis *et al.* Bio-based materials with novel characteristics for tissue engineering applications – A review. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 98, p.837-846, maio 2017. Elsevier BV.

BIAZOTTO, Katia Regina *et al.* Brazilian Biodiversity Fruits: Discovering Bioactive Compounds from Underexplored Sources. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 67, n. 7, p.1860-1876, fev. 2019. American Chemical Society (ACS).

BITENCOURT, Claudia da Silva *et al.* Microspheres prepared with different copolymers of poly(lactic-glycolic acid) (PLGA) or with chitosan cause distinct effects on macrophages. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 136, p.678-686, dez. 2015. Elsevier BV.

BRAVO, Laura. Polyphenols: Chemistry, Dietary Sources, Metabolism, and Nutritional Significance. **Nutrition Reviews**, [s.l.], v. 56, n. 11, p.317-333, 27 abr. 2009. Oxford University Press (OUP).

BRITO, Samara A. *et al.* Evaluation of gastroprotective and ulcer healing activities of yellow mombin juice from *Spondias mombin* L. **Plos One**, [s.l.], v. 13, n. 11, 5 nov. 2018. Public Library of Science (PLoS).

CABRAL, Bruna Reis Pimenta *et al.* Improving stability of antioxidant compounds from *Plinia cauliflora* (jabuticaba) fruit peel extract by encapsulation in chitosan microparticles. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 238, p.195-201, dez. 2018. Elsevier BV.

CARVALHO, Isabel T.; ESTEVINHO, Berta N.; SANTOS, Lúcia. Application of microencapsulated essential oils in cosmetic and personal healthcare products—a review. **International journal of cosmetic science**, v. 38, n. 2, p. 109-119, 2016.

CHEOK, Choon Yoong *et al.* Current trends of tropical fruit waste utilization. **Critical Reviews In Food Science And Nutrition**, [s.l.], p.1-27, 31 maio 2016. Informa UK Limited.

CHEYNIER, Véronique; HALBWIRTH, Heidi. Polyphenols: Physicochemical and Biological Properties and Perspectives of Their Use in a Zero-Waste Society. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.l.], v. 65, n. 31, p.6343-6345, 3 jul. 2017. American Chemical Society (ACS).

DEROSA, Giuseppe; MAFFIOLI, Pamela; SAHEBKAR, Amirhossein. Ellagic Acid and Its Role in Chronic Diseases. **Advances In Experimental Medicine And Biology**, [s.l.], p.473-479, 2016. Springer International Publishing.

DESAI, Nivas M. *et al.* Microencapsulation of antioxidant phenolic compounds from green coffee. **Preparative Biochemistry And Biotechnology**, [s.l.], v. 49, n. 4, p.400-406, 22 fev. 2019. Informa UK Limited.

FANK-DE-CARVALHO, Suzane Margaret *et al.* Plant Structure in the Brazilian Neotropical Savannah Species. **Biodiversity In Ecosystems - Linking Structure And Function**, [s.l.], p.409-409, 17 abr. 2015. InTech.

FILARDI, Fabiana L. Ranzato *et al.* Brazilian Flora 2020: Innovation and collaboration to meet Target 1 of the Global Strategy for Plant Conservation (GSPC). **Rodriguésia**, [s.l.], v. 69, n. 4, p.1513-1527, dez. 2018. FapUNIFESP (SciELO).

GELFUSO, Guilherme Martins *et al.* Chitosan microparticles for sustaining the topical delivery of minoxidil sulphate. **Journal Of Microencapsulation**, [s.l.], v. 28, n. 7, p.650-658, 9 ago. 2011. Informa UK Limited.

GELFUSO, Guilherme Martins *et al.* Preparações farmacêuticas e cosméticas com uso de nanotecnologia. **Brasília Médica**, [s.l.], v. 52, n. 1, p.8-20, 1 jan. 2015. Associacao Medica de Brasilia.

GONÇALVES, B. *et al.* Microencapsulation of a Natural Antioxidant from Coffee—Chlorogenic Acid (3-Caffeoylquinic Acid). **Food And Bioprocess Technology**, [s.l.], v. 10, n. 8, p.1521-1530, 29 abr. 2017. Springer Nature.

HAMED, Imen; ÖZOGUL, Fatih; REGENSTEIN, Joe M.. Industrial applications of crustacean by-products (chitin, chitosan, and chitooligosaccharides): A review. **Trends In Food Science & Technology**, [s.l.], v. 48, p.40-50, fev. 2016. Elsevier BV.

IRIONDO-DEHOND, Maite; MIGUEL, Eugenio; CASTILLO, María del. Food Byproducts as Sustainable Ingredients for Innovative and Healthy Dairy Foods. **Nutrients**, [s.l.], v. 10, n. 10, p.1358-1362, 22 set. 2018. MDPI AG.

JI, J. J.; DING, Z. J.; YANG, X. L. Preparation and properties of chitosan film as a drug sustained-release system. **Hua xi kou qiang yi xue za zhi= Huaxi kouqiang yixue zazhi= West China journal of stomatology**, v. 27, n. 3, p. 248-251, 2009.

JOYE, Iris Julie; MCCLEMENTS, David Julian. Biopolymer-based nanoparticles and microparticles: Fabrication, characterization, and application. **Current Opinion In Colloid & Interface Science**, [s.l.], v. 19, n. 5, p.417-427, out. 2014. Elsevier BV.

KUNDU, Anish. Vanillin biosynthetic pathways in plants. **Planta**, [s.l.], v. 245, n. 6, p.1069-1078, 29 mar. 2017. Springer Nature.

LECETA, I. *et al.* Characterization and antimicrobial analysis of chitosan-based films. **Journal Of Food Engineering**, [s.l.], v. 116, n. 4, p.889-899, jun. 2013. Elsevier BV.

LEES, D. H.; FRANCIS, F. J. Standardization of pigment analyses in cranberries. **HortScience, Stanford**, v.7, n. 1, p.83-84, 1972.

LIANG, Hongshan *et al.* Supramolecular design and applications of polyphenol-

based architecture: A review. **Advances In Colloid And Interface Science**, [s.l.], v. 272, p.102019-102019, out. 2019.

LIANG, Jin *et al.* Applications of chitosan nanoparticles to enhance absorption and bioavailability of tea polyphenols: A review. **Food Hydrocolloids**, [s.l.], v. 69, p.286-292, ago. 2017. Elsevier BV.

LIZARDI-MENDOZA, Jaime; MONAL, Waldo M. Argüelles; VALENCIA, Francisco M. Goycoolea. Chemical Characteristics and Functional Properties of Chitosan. **Chitosan In The Preservation Of Agricultural Commodities**, [s.l.], p.3-31, 2016. Elsevier.

MELO, Priscilla Siqueira. **Compostos fenólicos de resíduos agroindustriais: identificação, propriedades biológicas e aplicação em matriz alimentar de base lipídica**. *Sini loco* [s.l.], p.11-111, 2016. Universidade de São Paulo Sistema Integrado de Bibliotecas - SIBiUSP.

MIRMIRAN, Parvin. Functional foods-based diet as a novel dietary approach for management of type 2 diabetes and its complications: A review. **World Journal Of Diabetes**, [s.l.], v. 5, n. 3, p.267-281, 2014. Baishideng Publishing Group Inc.

MORZELLE, Maressa Caldeira *et al.* Caracterização química e física de frutos de curriola, gariroba e murici provenientes do cerrado brasileiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, [s.l.], v. 37, n. 1, p.96-103, mar. 2015. FapUNIFESP (SciELO).

MUXIKA, A. *et al.* Chitosan as a bioactive polymer: Processing, properties and applications. **International Journal Of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 105, p.1358-1368, dez. 2017. Elsevier BV.

OANCEA, Ana-maria *et al.* The kinetics of thermal degradation of polyphenolic compounds from elderberry (*Sambucus nigra* L.) extract. **Food Science And Technology International**, [s.l.], v. 24, n. 4, p.361-369, 6 fev. 2018. SAGE

Publications.

PAULO, Filipa; SANTOS, Lúcia. Design of experiments for microencapsulation applications: A review. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 77, p.1327-1340, ago. 2017. Elsevier BV.

QUIDEAU, Stéphane *et al.* Plant Polyphenols: Chemical Properties, Biological Activities, and Synthesis. **Angewandte Chemie International Edition**, [s.l.], v. 50, n. 3, p.586-621, 7 jan. 2011. Wiley.

QUINTÃO, Tatyane de Souza. **Microencapsulação de Compostos Bioativos de Cascas de Seriguela Cultivadas no Cerrado**. 2016. 50 f. TCC (Graduação) - Curso de Farmácia, Faculdade de Ceilândia, Universidade de Brasília, Brasília, 2016.

SIMÕES, Cláudia Maria Oliveira *et al.* **Farmacognosia**: da planta ao medicamento. 4. ed. Porto Alegre: Editora Ufsc. Cap. 16. p. 333-364, 2002.

SAWYER, Donald *et al.* Perfil do Ecossistema Hotspot de Biodiversidade do Cerrado. **Critical Ecosystem Partnership Fund**, 2017. Disponível em <https://www.cepf.net/sites/default/files/cerrado-ecosystem-profile-pr-updated.pdf>. Acesso em: 18 de setembro de 2019.

SHAHIDI, Fereidoon; AMBIGAIPALAN, Priyatharini. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects – A review. **Journal Of Functional Foods**, [s.l.], v. 18, p.820-897, out. 2015. Elsevier BV.

SINGLETON, Vernon L.; ROSSI, Joseph A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American journal of Enology and Viticulture**, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SOARES, Jackeline Cintra *et al.* Comprehensive characterization of bioactive phenols from new Brazilian superfruits by LC-ESI-QTOF-MS, and their ROS

and RNS scavenging effects and anti-inflammatory activity. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 281, p.178-188, maio 2019. Elsevier BV.

SOUZA, Vanessa Rosse de *et al.* Amazon Fruits Inhibit Growth and Promote Pro-apoptotic Effects on Human Ovarian Carcinoma Cell Lines. **Biomolecules**, [s.l.], v. 9, n. 11, p.707-722, 6 nov. 2019.

SUAVE, J. *et al.* Microencapsulação: Inovação em diferentes áreas. **Revista Saúde e Ambiente/Health and Environment Journal**, v. 7, n. 2, p. 12-20, 2006.

SUN, Lijun *et al.* Preparation and characterization of chitosan film incorporated with thinned young apple polyphenols as an active packaging material. **Carbohydrate polymers**, v. 163, p. 81-91, 2017.

SUN, Qiu; HEILMANN, Jörg; KÖNIG, Burkhard. Natural phenolic metabolites with anti-angiogenic properties – a review from the chemical point of view. **Beilstein Journal Of Organic Chemistry**, [s.l.], v. 11, p.249-264, 16 fev. 2015. Beilstein Institut.

TAO, Han *et al.* Optimization of additives and their combination to improve the quality of refrigerated dough. **LWT**, v. 89, p. 482-488, 2018.

TIBURSKI, Júlia Hauck *et al.* Nutritional properties of yellow mombin (*Spondias mombin* L.) pulp. **Food Research International**, [s.l.], v. 44, n. 7, p.2326-2331, ago. 2011. Elsevier BV.

VINSOVA, Jarmila; VAVŘÍKOVÁ, Eva. Chitosan derivatives with antimicrobial, antitumour and antioxidant activities-a review. **Current pharmaceutical design**, v. 17, n. 32, p. 3596-3607, 2011.

VODNAR, Dan Cristian *et al.* Identification of the bioactive compounds and antioxidant, antimutagenic and antimicrobial activities of thermally processed agro-industrial waste. **Food Chemistry**, [s.l.], v. 231, p.131-140, set. 2017.

Elsevier BV.

VOLF, Irina *et al.* Thermal stability, antioxidant activity, and photo-oxidation of natural polyphenols. **Chemical Papers**, [s.l.], v. 68, n. 1, p.1-9, 1 jan. 2014. Springer Nature.

YINGNGAM, Bancha *et al.* Modeling and stability study of the anthocyanin-rich maoberry fruit extract in the fast-dissolving spray-dried microparticles. **Powder Technology**, [s.l.], v. 325, p.261-270, fev. 2018. Elsevier BV.

YOUNES, Islem; RINAUDO, Marguerite. Chitin and Chitosan Preparation from Marine Sources. Structure, Properties and Applications. **Marine Drugs**, [s.l.], v. 13, n. 3, p.1133-1174, 2 mar. 2015. MDPI AG.